

学位論文内容要旨(甲)

論文題名

LPS inhibits ectopic bone formation induced by bone morphogenetic protein-2 and TGF- β 1 through IL-1 β production

(LPS は IL-1 β の産生を介して BMP-2 と TGF- β 1 が誘導する異所性骨形成を抑制する)

掲載雑誌名

Biochemical and Biophysical Research Communications (投稿中)

専攻科目 歯科補綴学 氏名 松本 光史

内容要旨

【目的】BMP (bone morphogenetic protein)は未分化間葉系細胞を軟骨細胞、骨芽細胞へと分化誘導し、異所性の骨形成を誘導することから、骨欠損修復治療に応用可能なタンパク質として期待されている。治療に用いるには多量のBMPが必要になるが、我々は以前TGF- β 1というサイトカインがBMP-2による骨形成作用を強力に促進することを見いだした。しかし、臨床応用を考えると術中、術後に起こりうる細菌感染がBMP骨形成能にいかなる影響を及ぼすかについて理解する必要がある。そこで、本研究では細菌感染を想定し、細菌成分であるLPSがBMPとTGF- β 1による骨形成に及ぼす影響について解析した。

【方法】(1)異所性、同所性骨解析：ヒトBMP-2及びヒトTGF- β 1を含むコラーゲンゲルにLPSを添加し、凍結乾燥によりスポンジを作製した。これをマウスの後背筋膜下、または頭蓋骨の骨欠損部位に埋入し、14日後に形成された組織塊および頭蓋骨を摘出し、 μ CTを用いて形態測定を行うとともに組織塊を用いて組織学的解析を行った。また、TNF- α 欠損、またはIL-1 α / β 二重欠損マウスを用いて同様の解析を行った。(2)遺伝子発現変化解析：野生型マウスにおけるスポンジ埋入5日後の後背筋膜下組織塊のmRNA発現変化を定量的RT-PCR法とDNAマイクロアレイを用いて解析した。(3)細胞増殖解析：野生型マウスにおけるスポンジ埋入5日後の組織塊を摘出し、酵素処理によって細胞を回収した。回収した細胞を用いて幹細胞増殖培地での細胞増殖試験を行った。

【結果】BMP-2とTGF- β 1を含むスポンジにLPSを添加すると、後背筋膜下に形成された異所性骨の体積はLPS無添加群に比べ、約1/2に減少した。さらに頭蓋骨修復実験においてもLPSは骨形成を抑制した。LPSの骨形成阻害機序を解明するため、5日目の組織塊におけるmRNA発現を網羅的に解析したところ、LPS投与群ではTNF- α およびIL-1 β のmRNA発現レベルが顕著に上昇していた。そこでLPSを添加したスポンジをTNF- α またはIL-1 α / β 二重欠損マウスに埋入したところ、TNF- α 欠損マウスでは野生型と同様に骨形成が抑制されたが、IL-1 α / β 二重欠損マウスでは抑制されなかった。また、組織塊から採取した細胞は、IL-1 β の存在下で培養するとその細胞の増殖が抑制された。

【結論】以上の結果から、LPSがBMP-2とTGF- β 1による骨形成を阻害することが明らかとなり、阻害作用は、産生されたIL-1 β を介することが示唆された。これよりIL-1 β の活性を制御することにより、細菌感染による骨形成阻害作用を回避できる可能性が示唆された。